remel

BactiDrop™ Indole (Kovacs')

(English)

INTENDED USE

Remel BactiDrop™ Indole (Kovacs') is a reagent recommended for use in qualitative procedures to determine the ability of an organism to split indole from the tryptophan molecule.

SUMMARY AND EXPLANATION

Previous tests for the detection of indole production required a xylene extraction procedure to detect small amounts of indole produced from the breakdown of tryptophan. Kovacs' utilized amyl alcohol in place of ethyl alcohol to bypass the extraction procedure involved in the Ehrlich-Boehme reagent.[1] Gadebusch and Gabriel reported that substitution of isoamyl alcohol also resulted in greater stability of the Kovacs' reagent.[2]

PRINCIPLE

Intracellular enzymes, collectively called "trytophanase", mediate the production of indole by hydrolytic activity against the amino acid, tryptophan. Indole combines with dimethylaminobenzaldehyde to form a red compound. The reaction occurs by a condensation process formed by an acid splitting of the protein.[3]

REAGENTS (CLASSICAL FORMULA)*

ρ-Dimethylaminobenzaldehyde (CAS 100-10-7)	50.0 g
Hydrochloric Acid, Conc (CAS 7647-01-0)	250.0 ml
Amyl Alcohol (CAS 71-41-0)	750.0 ml

*Adjusted as required to meet performance standards.

PRECAUTIONS

DANGER! Causes burns by all exposure routes. Flammable liquid and vapor. Breathing vapors may cause drowsiness and dizziness. May be absorbed through intact skin. Aspiration hazard if swallowed. Can enter lungs and cause damage. May cause central nervous system depression. Repeated or prolonged exposure may cause erosion of exposed teeth. Corrosive to metal.

This product is For *In Vitro* Diagnostic Use and should be used by properly trained individuals. Precautions should be taken against the dangers of microbiological hazards by properly sterilizing specimens, containers, and media after use. Directions should be read and followed carefully. Refer to Material Safety Data Sheet for additional information.

STORAGE

This product is ready for use and no further preparation is necessary. Store product in its original container at 20-25°C until used. Do not freeze or overheat. Protect from light.

PRODUCT DETERIORATION

This product should not be used if (1) there is evidence of dehydration, (2) the color has changed, (3) the expiration date has passed, or (4) there are other signs of deterioration. The expiration date applies to the product in its intact container when stored as directed. Discard remaining portion of partially used ampule at end of workday.

SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, TRANSPORT

Specimens should be collected and handled following recommended guidelines.[4,5]

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

(1) Loop sterilization device, (2) Inoculating loop, swabs, collection containers, (3) Incubators, alternative environmental systems, (4) Supplemental media, (5) Quality control organisms, (6) Indole broth (REF 061172), (7) Pipettes.

PROCEDURE

Place dropper in the assembled, reusable ampule crusher provided. Hold the dropper/crusher in an upright position and lightly tap the bottom to dislodge any bubbles that may have formed. Grasp the middle of the dropper/crusher with the thumb and forefinger, and with the tip pointing away, press gently to crush the ampule. Invert dropper and squeeze slightly to dispense in a dropwise fashion.

Test Procedure:

1. Dispense 5 drops of BactiDrop™ Indole (Kovacs') down the side of a tube of indole medium that has been inoculated with the test organism and incubated at 35°C for 24 hours. Gently shake the tube.
2. Observe for a pink color development in the form of a ring interfaced between the broth and the reagent.

INTERPRETATION

Positive Test - A pink-red ring between the broth and reagent

Negative Test - No color development

QUALITY CONTROL
All lot numbers of BactiDrop™ Indole (Kovacs') have been tested using the following quality control organisms and have been found to be acceptable. Testing with a positive and negative control should be performed in accordance with established laboratory quality control procedures. If aberrant quality control results are noted, patient results should not be reported.

CONTROL	RESULTS
Escherichia coli ATCC® 25922	Positive
Salmonella enterica serovar Typhimurium ATCC® 14028	Negative

LIMITATIONS
1. Test only colonies cultured on non-glucose containing media, as glucose inhibits indole production.[3]
2. Organisms from MacConkey Agar and EMB Agar cannot be tested; indicators in these media may cause a positive reaction.[3]
3. Certain strains of *Proteus vulgaris, Providencia* and *Aeromonas* will give a false negative reaction.[6]
4. Verify that media used contains adequate tryptophan by testing known positive and negative control organisms.
5. The enzyme that degrades tryptophan is diffusible in agar. Weakly false positive reactions may occur if a mixed culture of indole-positive and indole-negative organisms is used. Test only pure cultures.[3]

BIBLIOGRAPHY

1. Kovacs, N.Z. 1928. Immunforsch. 55:311.
2. Gadebusch, H.H. and S. Gabriel. 1956. Am. J. Clin. Pathol. 26:1373-1375.
3. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
4. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Yolken. 2003. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. ASM, Washington, D.C.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 11th ed. Mosby, St. Louis, MO.
6. Blazevic, D.J. and G.M. Ederer. 1975. Principles of Biochemical Tests in Diagnostic Microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.

PACKAGING
BactiDrop™ Indole (Kovac's) (0.75ml/Ampule):
REF 21522 ..... 50 Ampules/Pk

Symbol Legend

REF	Catalog Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
LAB	For Laboratory Use
	Consult Instructions for Use (IFU)
	Temperature Limitation (Storage Temp.)
LOT	Batch Code (Lot Number)
	Use By (Expiration Date)
EC REP	European Authorized Representative

CE

BactiDrop™ is a trademark of Remel Inc.
ATCC® is a registered trademark of American Type Culture Collection.
CAS (Chemical Abstracts Service Registry No.)

IFU 21522, Revised June 12, 2006 Printed in the U.S.A.

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
General Information: (800) 255-6730 Technical Service: (800) 447-3641 Order Entry: (800) 447-3635
Local/International Phone: (913) 888-0939 International Fax: (913) 895-4128
Website: www.remel.com Email: remel@remel.com

remel

BactiDrop™ Indole (Réactif de Kovacs) (Français)

INDICATION
Le réactif Indole (Réactif de Kovacs) BactiDrop™ de Remel est recommandé dans le cadre des procédures qualitatives pour déterminer la capacité d'un microorganisme à dissocier l'indole du tryptophane.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION
Avec les tests précédents de détection de production d'indole, il était nécessaire de mettre en œuvre une extraction au xylène afin de détecter les faibles quantités d'indole issu de la dissociation du tryptophane. Kovacs a utilisé de l'alcool amylique au lieu d'alcool éthylique pour éviter la phase d'extraction nécessaire avec le réactif d'Ehrlich-Boehme.[1] Gadebusch et Gabriel ont signalé que la substitution par l'alcool isoamylique donne aussi une plus grande stabilité au réactif de Kovacs.[2]

PRINCIPE
Les enzymes intracellulaires, appelés «tryptophanase», servent d'intermédiaire dans la production d'indole par l'activité hydrolytique affectant l'acide aminé tryptophane. L'idole se combine avec le diméthyl-aminobenzaldéhyde pour former un composé rouge. La réaction se produit par un processus de condensation formé par une dissociation acide de la protéine.[3]

RÉACTIFS (FORMULE CLASSIQUE)*
ρ-diméthylaminobenzaldéhyde
(CAS 100-10-7).....50,0 g
Acide chlorhydrique, conc. (CAS 7647-01-0) ..250,0 ml
Alcool amylique (CAS 71-41-0) .....750,0 ml

*Avec ajustements éventuels pour satisfaire aux normes de performance.

PRÉCAUTIONS
DANGER ! Risque de brûlure de toutes les voies exposées. Liquide et vapeur inflammables. Si vous respirez les vapeurs, cela peut entraîner des vertiges et de la somnolence. Risque d'absorption en cas de contact avec la peau. Risque d'aspiration si ingéré: peut entrer dans les poumons et provoquer des lésions. Risque de dépression du système nerveux central. Une exposition répétée ou prolongée risque d'entraîner une érosion des dents exposées. Corrosif pour les métaux.

Ce produit exclusivement destiné à un usage diagnostique *in vitro* ne doit être utilisé que par des personnes dûment formées. Toutes les précautions contre les risques microbiologiques doivent être prises et il est indispensable de bien stériliser les prélèvements, les récipients et les milieux après usage. Toutes les instructions doivent être lues attentivement et soigneusement suivies. Consulter la fiche de données de sécurité pour avoir des informations supplémentaires.

STOCKAGE
Le produit est prêt à l'emploi et aucune préparation supplémentaire n'est nécessaire. Le conserver dans son conditionnement d'origine entre 20 et 25°C, jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler ni surchauffer. Ne pas exposer à la lumière.

DÉTÉRIORATION DU PRODUIT
Le produit ne doit pas être utilisé si (1) vous observez une déshydratation, (2) la couleur a changé, (3) la date de péremption est dépassée ou (4) d'autres signes de détérioration sont présents. La date de péremption s'applique au produit à condition que le récipient soit intact et qu'il soit stocké conformément aux instructions. À la fin de la journée de travail, le produit restant éventuellement dans l'ampoule doit être jeté.

RECUEIL, STOCKAGE ET TRANSPORT DES PRÉLÈVEMENTS
Les prélèvements doivent être recueillis et manipulés conformément aux recommandations en usage dans la profession.[4,5]

MATÉRIEL REQUIS NON FOURNI
(1) Dispositif de stérilisation (2) oese d'inoculation, écouvillons, récipients de prélèvement, (3) incubateurs, autres systèmes environnementaux, (4) milieux supplémentaires, (5) microorganismes de contrôle de qualité, (6) bouillon d'indole (REF 061172), (7) pipettes.

PROCÉDURE
Placer le compte-gouttes dans le broyeur d'ampoules réutilisable fourni. Tenir bien droit l'ensemble compte-gouttes/broyeur et tapoter légèrement le bas pour en déloger les bulles qui s'y sont éventuellement formées. Saisir l'ensemble compte-gouttes/broyeur par le milieu entre le pouce et l'index et, la pointe dirigée vers l'extérieur, appuyer doucement pour écraser l'ampoule. Retourner le compte-gouttes et appuyer sans excès pour déposer les gouttes une à une.

Procédure de l'analyse:
1. Déposer 5 gouttes d'Indole (Réactif de Kovacs) BactiDrop™ le long de la paroi d'un tube de milieu d'indole qui a été inoculé avec le microorganisme à analyser, puis incubé à 35°C pendant 24 heures. Agiter doucement le tube à essai.
2. Observer et rechercher l'apparition d'une coloration rose ayant la forme d'un anneau au niveau de l'interface entre le bouillon et le réactif.

INTERPRÉTATION DU TEST

Test Positif - Apparition d'un anneau de couleur rose-rouge entre le réactif et le bouillon

Test Négatif - Aucune apparition de couleur

CONTRÔLE QUALITÉ

Tous les numéros de lots d'Indole (Réactif de Kovacs) BactiDrop™ ont été testés avec les microorganismes de contrôle de qualité suivants et reconnus acceptables. Les tests avec des contrôles positifs et négatifs doivent satisfaire aux critères établis pour les procédures de contrôle qualité en laboratoire. En cas de résultats de contrôle qualité aberrants, ne pas signaler les résultats du patient.

CONTRÔLE	**RÉSULTATS**
Escherichia coli ATCC® 25922	Positif
Salmonella enterica de sérotype Typhimurium ATCC® 14028	Négatif

LIMITATIONS

1. Ne réaliser le test que sur des colonies cultivées sur des milieux ne contenant pas de glucose, car le glucose inhibe la production d'indole.[3]
2. Il est impossible d'utiliser les microorganismes cultivés sur gélose de MacConkey et sur gélose Éosine-bleu de méthylène (EMB) avec cette méthode; les indicateurs présents dans les milieux risquent de donner une réaction positive.[3]
3. Certaines souches de *Proteus vulgaris, Providencia* et *Aeromonas* donnent un faux négatif.[6]
4. Vérifier que les milieux utilisés contiennent du tryptophane approprié en analysant des microorganismes de contrôle positif et négatif.
5. L'enzyme qui dégrade le tryptophane peut se diffuser dans la gélose. Vous pouvez avoir des faux positifs (limite) si vous utilisez une culture mélangeant des microorganismes indole-positifs et indole-négatifs. Ne tester que des cultures pures.[3]

BIBLIOGRAPHIE

1. Kovacs, N.Z. 1928. Immunforsch. 55:311.
2. Gadebusch, H.H. and S. Gabriel. 1956. Am. J. Clin. Pathol. 26:1373-1375.
3. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
4. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Yolken. 2003. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. ASM, Washington, D.C.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 11th ed. Mosby, St. Louis, MO.
6. Blazevic, D.J. and G.M. Ederer. 1975. Principles of Biochemical Tests in Diagnostic Microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.

CONDITIONNEMENT

BactiDrop™ Indole (Réactif de Kovacs) (0,75ml/ampoule):
REF 21522 ..... 50 ampoules/boîte

Légende des Symboles

REF	Numéro de référence
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
LAB	Pour usage en laboratoire
	Lire les instructions avant utilisation (IFU = mode d'emploi)
	Limites de température (stockage)
LOT	Code du lot (numéro de lot)
	À utiliser avant le (date de péremption)
EC REP	Mandataire pour l'UE

CE

BactiDrop™ est une marque de commerce de Remel Inc.
ATCC® est une marque déposée d'American Type Culture Collection.
CAS (numéro de registre CAS).

IFU 21522, révisé le 2006-06-12 Imprimé aux États-Unis.

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, États-unis
Informations générales: (800) 255-6730 Services techniques: (800) 447-3641 Service des commandes: (800) 447-3635
Téléphone local/International: (913) 888-0939 Fax International: (913) 895-4128
Site Internet: www.remel.com Courriel: remel@remel.com

remel

BactiDrop™ Indol (Kovacs')

(Deutsch)

ANWENDUNGSGEBIET
Remel BactiDrop™ Indol (Kovacs') wird als Reagenz für die qualitative Untersuchung der Fähigkeit von Organismen, Indol vom Tryptophanmolekül abzuspalten, empfohlen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG
Früher war für Tests zur Erkennung der Indol-Produktion ein Xylol-Extraktionsverfahren erforderlich, um kleine Mengen Indol festzustellen, die durch den Abbau von Tryptophan entstehen. Kovacs verwendete Amylalkohol anstelle von Ethylalkohol, um das mit dem Ehrlich-Boehme-Reagenz verbundene Extraktionsverfahren zu umgehen.[1] Gadebusch und Gabriel berichteten, dass der Austausch von Isoamlyalkohol ebenfalls zu einer größeren Stabilität des Kovacs-Reagenzes führt.2

PRINZIP
Intrazelluläre Enzyme, die kollektiv als "Tryptophanase" bezeichnet werden, vermitteln die Indol-Produktion durch Hydrolyse der Aminosäure Tryptophan. Indol verbindet sich mit Dimethylaminobenzaldehyd zu einer roten Verbindung. Die Reaktion tritt als Kondensationsprozess auf, der durch das Spalten des Proteins mittels Säure ausgelöst wird.[3]

REAGENZIEN (KLASSISCHE FORMEL)*

ρ-Dimethylaminobenzaldehyd (CAS 100-10-7)	50,0 g
Konzentrierte Salzsäure (CAS 7647-01-0)	250,0 ml
Amylalkohol (CAS 71-41-0)	750,0 ml

* Jeweils angepasst, um die Leistungscharakteristika zu erfüllen.

VORSICHTSMAßNAHMEN
GEFAHR! Jede Art von Kontakt führt zu Verbrennungen. Entzündliche Flüssigkeit und Dämpfe. Das Einatmen der Dämpfe kann Benommenheit und Schwindelanfälle verursachen. Das Reagenz kann durch die intakte Haut absorbiert werden. Aspirationsgefahr bei Verschlucken. Das Reagenz kann in die Lungen gelangen und sie schädigen. Kann zu Beeinträchtigungen des zentralen Nervensystems führen. Wiederholter oder längerer Kontakt kann zur Erosion ungeschützter Zähne führen. Korrosiv zu Metall.

In Vitro-Diagnostikum. Nur zur Verwendung durch Fachpersonal. Zur Vermeidung mikrobiologischer Risiken sind geeignete Vorsichtsmaßnahmen zu treffen. Nach dem Gebrauch sind das Probenmaterial, Behälter und Kulturmedien zu sterilisieren. Die Anweisungen sind sorgfältig zu lesen und zu befolgen. Zusätzliche Hinweise sind im Sicherheitsdatenblatt abgedruckt.

LAGERUNG
Dieses Produkt ist gebrauchsfertig. Das Produkt ist bis zur Verwendung bei 20-25°C in dem Originalbehälter aufzubewahren. Nicht einfrieren oder überhitzen. Vor Licht schützen.

PRODUKTBEEINTRÄCHTIGUNG
Dieses Produkt darf nicht angewendet werden, falls (1) Dehydrierung auftritt, (2) Farbveränderungen eingetreten sind, (3) das Verfallsdatum überschritten wurde oder (4) andere Anzeichen einer Beeinträchtigung des Produkts erkennbar sind. Das Verfallsdatum gilt unter der Voraussetzung, dass sich das Produkt im Originalbehälter befindet und gemäß den Anleitungen aufbewahrt wird. Reste teilweise verbrauchter Ampullen sind am Ende des Arbeitstages zu vernichten.

PROBENENTNAHME, LAGERUNG UND TRANSPORT
Die Probennahme und die weitere Handhabung sind nach den empfohlenen Richtlinien durchzuführen.[4,5]

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN SIND
(1) Gerät zur Sterilisierung von Impfösen, (2) Impföse, Tupfer, Sammelbehälter, (3) Inkubator, alternative Anzuchtmethoden, (4) ergänzende Kulturmedien, (5) Qualitätskontrollorganismen, (6) Indol-Bouillon (REF 061172), (7) Pipetten.

VERFAHREN
Ampulle in den mitgelieferten, wieder verwendbaren Tropfer/Ampullenöffner einsetzen. Ampullenöffner in aufrechter Position halten und leicht auf den Boden klopfen, um eventuelle Luftbläschen zu entfernen. Den Ampullenöffner mit Daumen und Zeigefinger in der Mitte umfassen, um die Ampulle zu zerdrücken. Ampulle umdrehen und die Flüssigkeit durch leichtes Drücken tropfenweise auftragen.

Testverfahren:
1. Ein Röhrchen der Indol-Bouillon mit dem Testorganismus beimpfen und für 24 Stunden bei 35°C inkubieren. An der Innenseite des Röhrchens 5 Tropfen BactiDrop™ Indol (Kovacs') in die Indol-Bouillon hinein laufen lassen. Das Röhrchen leicht schütteln.
2. Auf eine rosa Farbentwicklung in Form eines Ringes zwischen der Bouillon und dem Reagenz untersuchen.

INTERPRETATION

Positiver Test - Ein rosaroter Ring zwischen Bouillon und Reagenz

Negativer Test - Keine Farbentwicklung

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle Chargen von BactiDrop™ Indol (Kovacs') wurden mithilfe der folgenden Qualitätskontrollorganismen überprüft. Die Tests sollten mit einer positiven und negativen Kontrolle entsprechend den anerkannten Qualitätskontrollverfahren für Laboratorien durchgeführt werden. Falls die Qualitätskontrollergebnisse abweichen, sollten die Patientenergebnisse nicht angegeben werden.

KONTROLLE	**ERGEBNISSE**
Escherichia coli ATCC® 25922	Positiv
Salmonella enterica serovar Typhimurium ATCC® 14028	Negativ

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Nur Kolonien testen, die auf einem glucosefreien Kulturmedium gezüchtet wurden, da Glukose die Indolproduktion hemmt.
2. Organismen von MacConkey-Agar und EMB-Agar können nicht getestet werden, da die Indikatoren aus diesen Medien eine positive Reaktion hervorrufen können.
3. Bestimmte Stämme von *Proteus vulgaris, Providencia* und *Aeromonas* können zu falsch negativen Reaktionen führen.[6]
4. Das Kulturmedium muss ausreichend Tryptophan enthalten. Zur Überprüfung ist daher ein Test mit bekannten positiven und negativen Kontrollorganismen durchzuführen.
5. Das Enzym, das Tryptophan abbaut, ist in Agar diffusionsfähig. Leicht falsch positive Reaktionen können auftreten, wenn eine Mischkultur aus Indol-positiven und Indol-negativen Organismen verwendet wird. Daher sollten nur Reinkulturen getestet werden.[3]

BIBLIOGRAPHIE

1. Kovacs, N.Z. 1928. Immunforsch. 55:311.
2. Gadebusch, H.H. und S. Gabriel. 1956. Am. J. Clin. Pathol. 26:1373-1375.
3. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
4. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, und R.H. Yolken. 2003. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. ASM, Washington, D.C.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm und A.S. Weissfeld. 2002. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 11th ed. Mosby, St. Louis, MO.
6. Blazevic, D.J. und G.M. Ederer. 1975. Principles of Biochemical Tests in Diagnostic Microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.

VERPACKUNG

BactiDrop™ Indol (Kovac's) (0,75ml/Ampulle):
REF 21522 ..... 50 Ampullen/Pk

Verwendete Symbole

REF	Katalognummer
IVD	*In Vitro*-Diagnostikum
LAB	Nur im Labor anwenden
	In der Packungsbeilage (IFU) nachlesen
	Temperatureinschränkungen (Lagertemperatur)
LOT	Chargencode (Lotnummer)
	"Verwendbar bis" (Verfallsdatum)
EC REP	Autorisierte Vertretung für EU-Länder

CE

BactiDrop™ ist ein Warenzeichen von Remel Inc.
ATCC® ist ein eingetragenes Warenzeichen von American Type Culture Collection.
CAS (Chemical Abstracts Service) Registernummer

IFU 21522, Version vom 2006-06-12 Gedruckt in den U.S.A.

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
Allgemeine Informationen: (800) 255-6730 Technischer Kundendienst: (800) 447-3641 Auftragsannahme: (800) 447-3635
Telefon national / international: (913) 888-0939 Fax international: (913) 895-4128
Website: www.remel.com E-Mail: remel@remel.com

remel

BactiDrop™ Indolo (Reattivo di Kovacs) (Italiano)

USO PREVISTO
L'indolo (Reattivo di Kovacs) BactiDrop™ di Remel è un reagente raccomandato per l'uso in procedure qualitative finalizzate a stabilire la capacità di un microrganismo di scindere l'indolo dalla molecola del triptofano.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO
Test precedenti per la rilevazione della produzione di indolo richiedevano una procedura di estrazione mediante xilene che consentiva di rilevare piccole quantità di indolo prodotto dalla scissione del triptofano. Kovacs utilizzò alcol amilico anziché alcol etilico per bypassare la procedura di estrazione legata all'uso del reagente di Ehrlich-Boehme.[1] Gadebusch e Gabriel dimostrarono che anche la sostituzione con alcol isoamilico dava maggiore stabilità al reagente di Kovacs.[2]

PRINCIPIO
Gli enzimi intracellulari, noti collettivamente come "triptofanasi", mediano la produzione di indolo grazie all'attività idrolitica contro l'amminoacido triptofano. L'indolo si combina con la dimetilaminobenzaldeide per formare un composto di colore rosso. La reazione ha luogo per mezzo di un processo di condensazione costituito da una scissione acida della proteina.[3]

REAGENTI (FORMULA CLASSICA)*
ρ-dimetilaminobenzaldeide
(CAS 100-10-7).....50,0 g
Acido cloridrico conc. (CAS 7647-01-0).....250,0 ml
Alcol amilico (CAS 71-41-0).....750,0 ml

*La formulazione è regolata in base ai criteri di esecuzione richiesti.

PRECAUZIONI
PERICOLO! Causa ustioni in tutte le forme di esposizione. Liquido e vapori infiammabili. Respirare i vapori può indurre sonnolenza e capogiri. Può essere assorbito dalla pelle integra. Pericolo di aspirazione se ingerito. Può danneggiare i polmoni. Può causare depressione del sistema nervoso centrale. L'esposizione ripetuta o prolungata può causare l'erosione dei denti esposti. Corrosivo per i metalli.

Il prodotto è indicato per l'uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato solo da personale competente ed esperto. Si raccomanda di adottare le dovute precauzioni contro eventuali rischi microbiologici sterilizzando opportunamente dopo l'uso campioni, contenitori e strumenti. Leggere con attenzione le istruzioni contenute in questo documento e attenervisi scrupolosamente. Per ulteriori informazioni consultare la scheda tecnica di sicurezza.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE
Questo prodotto è pronto per l'uso e non necessita di ulteriore preparazione. Conservare il prodotto nel suo contenitore originale ad una temperatura di 20-25°C fino al momento dell'utilizzo. Non congelare né surriscaldare. Proteggere il prodotto dalla luce.

DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO
Non utilizzare il prodotto (1) in presenza di segni evidenti di disidratazione, (2) se ha cambiato colore, (3) oltre la data di scadenza o (4) in presenza di altri segni di deterioramento. La data di scadenza del prodotto è considerata valida se il contenitore è integro e se il prodotto viene conservato secondo le indicazioni. Gettare la parte restante della fiala parzialmente utilizzata alla fine del giorno di lavoro.

RACCOLTA, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI
Prelevare e trattare i campioni attenendosi alle linee guida raccomandate.[4,5]

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO
(1) Dispositivo di sterilizzazione per anse, (2) anse per inoculo, tamponi, contenitori di raccolta, (3) termostato o sistemi per la formazione di atmosfere modificate, (4) terreni di coltura supplementari, (5) microrganismi per il controllo qualità, (6) brodo indolo (REF 061172), (7) pipette.

PROCEDIMENTO
Posizionare il contagocce nello strumento aprifiale montato e riutilizzabile fornito in dotazione. Tenere il contagocce/lo strumento aprifiale in posizione verticale e picchiettare leggermente la parte inferiore per eliminare eventuali bolle. Afferrare la parte centrale del contagocce/dello strumento aprifiale con il pollice e l'indice e, con la punta orientata verso l'esterno, premere delicatamente per aprire la fiala. Capovolgere il contagocce e premere leggermente per una distribuzione goccia a goccia.

Procedura del test:
1. Versare 5 gocce di indolo (Reattivo di Kovacs) BactiDrop™ lungo il bordo di una provetta di brodo indolo inoculato con il microrganismo da testare e incubato ad una temperatura di 35°C per 24 ore. Agitare delicatamente la provetta.
2. Osservare la comparsa di una colorazione rosa tra il brodo e il reagente.

INTERPRETAZIONE DEL TEST

Test Positivo -	Comparsa di un anello rosa-rosso tra il brodo e il reagente
Test Negativo -	Nessuna comparsa di colorazione

CONTROLLO QUALITÀ

Ogni lotto di indolo (Reattivo di Kovacs) BactiDrop™ è stato testato utilizzando i microrganismi per il controllo di qualità di seguito indicati ottenendo risultati ritenuti soddisfacenti. Eseguire una serie di test con un controllo positivo e negativo conformemente alle procedure di controllo qualità stabilite in laboratorio. Se i test di controllo qualità forniscono risultati aberranti, i risultati ottenuti con i campioni in esame non devono essere refertati.

CONTROLLO	RISULTATO
Escherichia coli ATCC® 25922	Positivo
Salmonella enterica serovar Typhimurium ATCC® 14028	Negativo

LIMITAZIONI

1. Sottoporre a test solo colonie coltivate su substrati non contenenti glucosio in quanto il glucosio inibisce la produzione di indolo.[3]
2. Non è possibile sottoporre a test microrganismi coltivati su agar MacConkey e agar EMB; gli indicatori presenti in questi substrati potrebbero determinare una reazione positiva.[3]
3. Certi ceppi di *Proteus vulgaris, Providencia* e *Aeromonas* danno una reazione falsa negativa.[6]
4. Accertarsi che i substrati utilizzati contengano una quantità adeguata di triptofano eseguendo test con microrganismi noti di controllo positivi e negativi.
5. L'enzima che degrada il triptofano si diffonde nell'agar. Possono verificarsi reazioni debolmente false positive in caso di utilizzo di una coltura mista di microrganismi positivi e negativi all'indolo. Sottoporre a test solo colture pure.[3]

BIBLIOGRAFIA

1. Kovacs, N.Z. 1928. Immunforsch. 55:311.
2. Gadebusch, H.H. and S. Gabriel. 1956. Am. J. Clin. Pathol. 26:1373-1375.
3. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
4. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Yolken. 2003. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. ASM, Washington, D.C.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 11th ed. Mosby, St. Louis, MO.
6. Blazevic, D.J. and G.M. Ederer. 1975. Principles of Biochemical Tests in Diagnostic Microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.

CONFEZIONE

BactiDrop™ Indolo (Reattivo di Kovacs) (0,75 ml/fiala):
REF 21522 ..... 50 fiale/confezione

Spiegazioni dei Simboli

REF	Numero di catalogo/codice
IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
LAB	Per uso di laboratorio
	Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)
	Limiti di temperatura
LOT	Codice del lotto
	Utilizzare entro
EC REP	Mandatario nella Comunità Europea

CE

BactiDrop™ è un marchio di Remel Inc.
ATCC® è un marchio registrato di American Type Culture Collection.

CAS (Numero del registro del Chemical Abstract Service)

IFU 21522, Data di revisione 2006-06-12 Stampato negli Stati Uniti

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
Informazioni generali: (800) 255-6730 Assistenza tecnica: (800) 447-3641 Per ordinazioni: (800) 447-3635
N. di telefono nazionale/internazionale: (913) 888-0939 Fax internazionale: (913) 895-4128
Sito Internet: www.remel.com E-mail: remel@remel.com

remel

BactiDrop™ Indol (de Kovacs) (Español)

USO PREVISTO
Remel BactiDrop™ indol (de Kovacs) es un reactivo recomendado para procedimientos cualitativos de determinación de la capacidad de un microorganismo para escindir el indol de la molécula de triptófano.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN
Los análisis anteriores para la detección de la producción de indol precisaban un procedimiento de extracción en xileno para detectar pequeñas cantidades del indol producido por la descomposición del triptófano. Kovacs utilizó el alcohol amílico en lugar del alcohol etílico para evitar el procedimiento de extracción en el que se utilizaba el reactivo Ehrlich-Boehme.[1] Gadebusch y Gabriel publicaron que la sustitución por el alcohol isoamílico también provocaba una mayor estabilidad del reactivo de Kovacs.[2]

PRINCIPIO
Las enzimas intracelulares colectivamente denominadas "triptofanasas" median la producción de indol a través de su actividad hidrolítica sobre el aminoácido triptófano. El indol se combina con el dimetilaminobenzaldehído para formar un compuesto rojo. La reacción se produce mediante un proceso de condensación por ruptura ácida de la proteína.[3]

REACTIVOS (FÓRMULA CLÁSICA)*
ρ-Dimetilaminobenzaldehído
(CAS 100-10-7).....50,0 g
Ácido clorhídrico conc. (CAS 7647-01-0) .....250,0 ml
Alcohol amílico (CAS 7141-0).....750,0 ml

*Ajustado según sea necesario para cumplir los patrones de rendimiento.

PRECAUCIONES
PELIGRO Produce quemaduras por todas las vías de exposición. Líquido y vapor inflamable. Respirar sus vapores puede provocar somnolencia y mareos. Puede ser absorbido a través de la piel intacta. Riesgo de aspiración si se traga. Puede entrar en los pulmones y causar lesión. Puede provocar depresión del sistema nervioso central. La exposición repetida o prolongada puede provocar erosión de los dientes expuestos. Es corrosivo para los metales.

Es un producto para diagnóstico *in vitro* únicamente y debe ser utilizado por personas adecuadamente preparadas. Deben tomarse precauciones contra los peligros de riesgos microbiológicos mediante la esterilización adecuada de las muestras, los envases y los medios después de su uso. Hay que leer las instrucciones y seguirlas meticulosamente. Consultar más información en la Ficha Técnica de Seguridad del material.

ALMACENAMIENTO
Este producto está listo para su uso y no se necesita más preparación. Guardar el producto en su envase original a 20-25ºC hasta que se use. No congelar ni sobrecalentar. Protegerlo de la luz.

DETERIORO DEL PRODUCTO
Este producto no debe utilizarse si (1) hay pruebas de deshidratación, (2) el color ha cambiado, (3) la fecha de caducidad ha pasado ó (4) hay otros signos de deterioro. La fecha de caducidad se refiere a este producto cuando está en su envase intacto y se almacena según las instrucciones. Desechar la porción restante de la ampolla parcialmente utilizada al final del día de trabajo.

RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS
Las muestras deben recogerse y manipularse siguiendo las pautas recomendadas.[4,5]

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO
(1) Esterilizador del asa, (2) Asa de inoculación, torundas, envases de recogida, (3) Incubadores, sistemas ambientales alternativos, (4) Medios de cultivo complementarios, (5) Microorganismos de control de calidad, (6) Caldo de xileno (REF 061172), (7) Pipetas.

PROCEDIMIENTO
Colocar el cuentagotas en el triturador de la ampolla reutilizable que se suministra ya montado. Sostener el cuentagotas/triturador en posición vertical y golpear suavemente la base para liberar las burbujas que puedan haberse formado. Sujetar la parte media del cuentagotas/triturador con el pulgar y el índice y, apartando la punta, apretar suavemente para aplastar la ampolla. Invertir el cuentagotas y apretar suavemente para dispensar gota a gota.

Procedimiento de análisis:
1. Dispensar 5 gotas de BactiDrop™ Indol (de Kovacs) por la pared de un tubo de medio de indol que haya sido inoculado con el microorganismo problema e incubado a 35ºC durante 24 horas. Agitar suavemente el tubo.
2. Observar la aparición de un color rosa en forma de un anillo en la interfase entre el caldo y el reactivo.

INTERPRETACIÓN

Prueba Positiva - Un anillo rosa-rojo entre el caldo y el reactivo

Prueba Negativa - No aparece color

CONTROL DE CALIDAD

Todos los números de lote de BactiDrop™ Indol (de Kovacs) se han ensayado utilizando los siguientes microorganismos de control de calidad y se han encontrado aceptables. Hay que realizar un análisis con un control positivo y negativo de acuerdo con los procedimientos analíticos establecidos de control de calidad. Si se observan resultados anómalos en el control de calidad, no deben informarse los resultados de los pacientes.

CONTROL	**RESULTADOS**
Escherichia coli ATCC® 25922	Positivo
Salmonella enterica serovar Typhimurium ATCC®14028	Negativo

LIMITACIONES

1. Analizar sólo colonias cultivadas en medios que no contengan glucosa, ya que la glucosa inhibe la producción de indol.[3]
2. No pueden analizarse microorganismos procedentes de agar de MacConkey y EMB, ya que los indicadores de estos medios pueden causar una reacción positiva.[3]
3. Ciertas cepas de *Proteus vulgaris, Providencia* y *Aeromonas* darán una reacción falso negativa.[6]
4. Verificar que los medios utilizados contiene triptófano adecuado analizando microorganismos de control positivo y negativo.
5. La enzima que degrada el triptófano es difusible en agar. Pueden producirse reaccciones positivas débilmente falsas si se utiliza un cultivo mixto de microorganismos indol positivos y negativos. Analizar sólo cultivos puros.[3]

BIBLIOGRAFÍA

1. Kovacs, N.Z. 1928. Immunforsch. 55:311.
2. Gadebusch, H.H. and S. Gabriel. 1956. Am. J. Clin. Pathol. 26:1373-1375.
3. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
4. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Yolken. 2003. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. ASM, Washington, D.C.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 11th ed. Mosby, St. Louis, MO.
6. Blazevic, D.J. and G.M. Ederer. 1975. Principles of Biochemical Tests in Diagnostic Microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.

PRESENTACIÓN

BactiDrop™ Indol (de Kovacs) (0,75 ml/Ampolla):
REF 21522 ..... 50 Ampollas/envase

Leyenda de los Símbolos

REF	Número de catálogo
IVD	Producto sanitario de diagnóstico *in vitro*
LAB	Para uso en el laboratorio
	Consultar las instrucciones de uso
	Limitación de la temperatura (temperatura de almacenamiento
LOT	Código de lote (número)
	Usar antes de (Fecha de caducidad)
EC REP	Representante europeo autorizado

CE

BactiDrop™ es una marca comercial de Remel Inc.
ATCC® es una marca comercial registrada de American Type Culture Collection.

CAS (Nº de registro del servicio de resúmenes químicos)

IFU 21522, Revisado el 2006-06-12 Impreso en Estados Unidos.

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, EE.UU.
Información general: (800) 255-6730 Servicio técnico: (800) 447-3641 Pedidos: (800) 447-3635
Teléfono local/Internacional: (913) 888-0939 Fax internacional: (913) 895-4128
Dirección en Internet: www.remel.com Correo electrónico: remel@remel.com